

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
 - TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
 - FADED TEXT
 - ILLEGIBLE TEXT
 - SKEWED/SLANTED IMAGES
 - COLORED PHOTOS
 - BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
 - GRAY SCALE DOCUMENTS
-

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

Correlated multi-dimensional chromatography.

Patent Number: ☐ EP0637748
Publication date: 1995-02-08
Inventor(s): GORDON GARY B (US); CURRY BO U (US)
Applicant(s):: HEWLETT PACKARD CO (US)
Requested Patent: ☐ JP7055786
Application Number: EP19940305679 19940801
Priority Number(s): US19930101322 19930802
IPC Classification: G01N30/86
EC Classification: G01N30/86B
Equivalents: ☐ US5398539

Abstract

In a two-dimensional gas chromatography system (200), it is necessary to "pair" peaks (1A1, 1A2, 1A3, 1A4, 1A5) from one chromatogram with respective peaks (1B1, 1B2, 1B3, 1B4, 1B5, 1B6) of another chromatogram. Both peaks of a pair should correspond to the same sample component. Confirmation or disconfirmation of pairs may be speculative or arbitrary. A hybrid chromatographic column (2AB) is designed so that the retention time of a sample component is the average of the retention times of that component in the two independent columns (2AA, 2BB). Thus, a peak location in the hybrid chromatogram can be calculated for each pair of peaks. The absence of a peak at that location or the inconsistency of the area of a peak at that

location disconfirms the pairing. Higher dimensional systems and other separation technologies may also be used. 

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-55786

(43) 公開日 平成7年(1995)3月3日

(51) Int.Cl.⁹

G 0 1 N 30/86
30/46

識別記号

庁内整理番号

G 8310-2J
A 8310-2J

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 9 頁)

(21) 出願番号 特願平6-200245

(22) 出願日 平成6年(1994)8月2日

(31) 優先権主張番号 1 0 1, 3 2 2

(32) 優先日 1993年8月2日

(33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 590000400

ヒューレット・パッカード・カンパニー
アメリカ合衆国カリフォルニア州パロアル
ト ハノーバー・ストリート 3000

(72) 発明者 ギャリー・ビー・ゴードン

アメリカ合衆国カリフォルニア州サラト
ガ、バンク・ミル・ロード 21112

(72) 発明者 ボー・ユー・カーリー

アメリカ合衆国カリフォルニア州レッドウ
ッド・シティー、ワシントン・アベニュー
2671

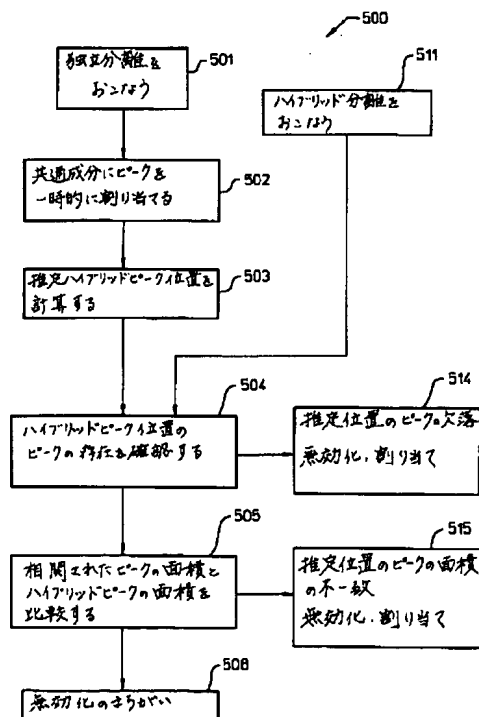
(74) 代理人 弁理士 遠藤 恭

(54) 【発明の名称】 多次元クロマトグラフィーとシステム

(57) 【要約】

【目的】複数の独立分離路を備える多次元クロマトグラフィーにおいて、成分共通のピークの割り当ておよび確認操作を容易する。

【構成】二次元クロマトグラフィーでは、あるクロマトグラムのピークと別のクロマトグラムのピークを組み合わせる必要がある。これらは同じ試料成分に対応しなければならない。本発明は組み合わせの確認・無効化を推測および任意に実施する。本願はハイブリッドカラムを備え、試料成分の保持時間が二つの独立カラムの成分の保持時間の平均となるように設計される。従って、ハイブリッドカラムのピーク位置は、該組のピークより求めることができる。ピークの欠落及びピーク面積の不一致によってその組み合わせを無効化する。本発明はまた高次元のシステムにも適用できる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】N個の独立分離操作とハイブリッド分離操作にしたがって、試料成分を分離し、Nは1よりも大きい整数であり、前記N個の分離操作は、N個の独立濃度分布を提供し、前記ハイブリッド分離操作は、実際のハイブリッド濃度分布を提供し、前記ハイブリッドおよび独立濃度分布のそれぞれは、各分布内におけるそれぞれの位置の一連のピークを含むものであり、前記ハイブリッド操作は、前記試料成分の一つに対する推定ハイブリッドピーク位置を、前記N個の独立濃度分布より、前記試料成分に対応するN個の独立したピーク位置の配置から計算されるように選択され、前記推定ハイブリッドピーク位置は、前記N個の独立ピーク位置で変化する関数より求めるものであり、

前記N個の独立濃度分布のN個のピーク位置から前記試料成分へ割り当てをおこない、

前記ハイブリッド分離路に基づいて確認ピークの推定位置を計算し、

前記推定位置にピークが存在するかを確認するため、前記ハイブリッド路を測定し、よって、確認すべきピークが存在しないことにより、前記N個のピークの前記割り当てを無効化することを特徴とする多次元クロマトグラフィー。

【請求項2】前記確認ピークの面積を前記N個のピークの面積と比較し、これによって、前記確認ピークの面積が割り当てられたピークの中で最小の面積のピークよりも極めて小さいときに、前記推定位置におけるピークの存在にもかかわらず、無効化をおこなうことを特徴とする請求項第1項記載の多次元クロマトグラフィー。

【請求項3】N個の異なる選択性を有するN個の独立分離路と、第1の選択性を有する第1の独立分離路と前記第1の選択性と異なる第2の選択性を有する第2の独立分離路を含むN個の独立分離路と、前記N個の選択性の組合せよりなるハイブリッド選択性を有するハイブリッド分離路と、前記独立分離路およびハイブリッド分離路に対する各クロマトグラムを生成させるための検出手段を含むことを特徴とする多次元クロマトグラフィー。

なう技術がある。「クロマトグラフィー」は、試料が分離路を移動するときに試料を各成分に分離し、そして、典型的には、分離された成分の定量を順次行う一連の分析方法を意味する。本願明細書では、「クロマトグラフィー」とは、ガスクロマトグラフィー(GC)および液体クロマトグラフィー(LC)だけではなく、キャピラリー電気泳動法(CE)およびゲル・キャピラリー電気泳動(GCE)も含むものである。

【0003】GCやLCにおいては、試料は、固定相担体を通るように流れる流体(キャリア)(気体または液体)によって運ばれる。試料分子は、担体を通過するとき、担体に吸着される。吸着は、吸着された試料分子が流体によって脱着されるという点で可逆的である。吸着された試料分子は、「固定相」内にあると考えられ、脱着された分子は「移動相」内にあると考えられている。

【0004】吸着された分子の数が増加するにつれて、吸着と脱着が等しくなるまで(equalize)まで脱着の速度が増加する。等しくなると、移動相と固定相の各試料成分の割合が平衡になる(in equilibrium)。平衡時の固定相と移動相との間の成分の分配は、成分、支持担体およびキャリア流体の関数である。所与の担体材料とキャリア流体については分配は試料成分の関数である。

【0005】固定相中の、分子の比較的大きい部分を有する試料成分は、移動相内では比較的わずかの時間しか滞留しない。したがって、このような成分の移動速度は、固定相中の、分子の比較的小さい部分を有する試料成分の移動速度よりもひくい。この移動速度の差が、液体クロマトグラフとガスクロマトグラフによる分離に影響を与える。

【0006】キャピラリー電気泳動法(CE)においては、分離路に沿って電場が印加される。電場は、その電荷に応じて分子を動かすが、粘性抵抗(viscous drag)は分子の大きさに関する推進力(propulsion)に逆らう。例えば、キャピラリー電気泳動法(CE)は電荷/移動度比に従って試料成分を分離する。

【0007】例えば、熱伝導度検出器(GC用)、紫外線吸収検出器(LCまたはCE用)等の検出器は、固定相から流出する分離した試料成分に対する時間によって、各成分の検出率を決定する。

出される「保持時間」によって同定することができる。特定の条件の下で分離される予測分析物の保持時間のテーブルを作成するために、試験操作 (test runs)を用いることもできる。そして、ピークの保持時間から逆に関連する成分を決定することができる。この同定アプローチは、多くの化学部位が同じような保持時間を有する可能性があるという事実によって制約される。その上、条件のわずかな変化が保持時間を変化させる可能性がある。この変化に対する許容範囲を提供することにより、所与の保持時間に対応しうる化学部位の数を著しく増加させる。 10

【0009】分離された成分を単離し、ある程度十分に確立した同定技術を適用することによって、識別はいっそう確実に進めることができる。例えば、GC/MSシステム (ガスクロマトグラフ/質量分析計システム) は、ガスクロマトグラフィーを利用して成分を分離し、質量分析計を利用してこれらの成分を同定する。代替の同定技術は、別々のバイアルから溶出バンドを得ることを含む。分離されたバンドに関連した成分を識別するため、様々の分光法に基づくまたは化学的なテストを利用する 20 ことができる。しかしながら、分離された成分が数百である場合、このような物理的単離は極めて困難である。

【0010】ハイフンが付けられたシステム (hyphenated system)においては、別々の成分を収集する過程を、「低速」カラムの端部に「高速」カラムを接続させることによって回避することができる。例えば、「高速」CEカラムを「低速」LCカラムの端部に取付けることができる。低速カラムの溶出液が採取され、結果得られる試料の一片(slice)を、次の一片が高速カラムに導入される前に高速カラムへ通す。高速カラムの端部にある単一の検出器は基本的に、1) ピークが検出される一片に対応する「総保持時間 (gross retention time)」、したがって、低速カラムにおける保持時間と、2) ピークが費やした高速カラムの「純保持時間 (finer retention time)」を識別する。これは二つの保持時間をそれぞれのバンドと関連づけさせる。高速カラムと低速カラムの選択特性が異なっていると仮定すれば、第1の保持時間だけを基準にしては分離することのできなかったある化学種を分離するために第2の保持時間を利用することができる。したがって、独特の同定の機会が増す。 30

【0011】実際には、低速カラムと高速カラムは両者がうまく作動するために最適条件ではなく操作されなければならない。それぞれの分離能は、ときどき低速カラムから試料を採取する必要があることによって悪くなり、高速カラムの溶離速度を著しく増加させる。分離能が比較的低いと、ピークはブロードになり、深刻な重なり (オーバーラップ) が生じ、識別の精度を低下させる。さらに、通常小さくなければならぬ低速カラムに 40

れた成分をさらに分析する必要なく、クロマトグラフィーの同定能力を向上させることができる。相関二次元クロマトグラフィーにおいて、感度の異なる二つのカラムが使用される。試料の二つの分配分がそれぞれ二つのカラムを通過する。これらの操作は独立に設計されており、各カラムに対して最適な条件を設定することができる。実際には、操作は分析時間を最小化するするため、同時におこなってもよい。一般に、一カラムにおいて分離できなかった物質を他のカラムで分離することができる。各クロマトグラムの結果は、他のクロマトグラムに基づき決定を確認するために利用することができる。

【0013】相関多次元クロマトグラフィーは、このアプローチを異なる選択性を有する二つまたはそれ以上のカラムに適用することである。操作は独立に行われるので、各操作は分離能と速度について個別に最適化することができる。これは、各カラムの分離能について高速カラムが一試料期間 (sample duration)内の各試料一片中の成分を分離することができるように妥協したハイフンを付けたアプローチに対して主要な利点を提供する。例えば、ハイフンを付けたアプローチに対するこのアプローチの一つの主要な利点とは、高感度と高速度に関して両方の操作をそれぞれ最適化することができることである。

【0014】相関多次元クロマトグラフィーの挑戦は、二つまたはそれ以上のクロマトグラムのピークを相関させることである。「相関」は、同じ試料成分であると推定されるピーク間の一致を決定することが含まれている。一つのクロマトグラムのピークがもう一つのクロマトグラムの所与のピークと一致するかを決定することは困難である。いったん正確な決定が行われると、両方の操作より得る保持時間のテーブルに戻って、成分を同定することができる。操作の選択性が独立していることより、共通の成分ピークに関する情報は、単一のピークからの情報よりも一般に不明瞭さが少ない。

【0015】残念なことに、どのピークを共通に割り当てるかを確認することは極めて困難である。各クロマトグラムに同じ100個の成分が現れていると仮定すれば、例えば、二つのクロマトグラムのそれぞれに100個のピークがあるならば、100のピークの組み合わせの可能性 40 がある。可能性のある相関の数は、重複を考慮するともっと多くなる。相関技術は、典型的には、単一の相関を残す目的で、可能性のある相関を排除するための方法が含まれている。「まちがった (uncorrected)」相関の多くは、ピークの面積を比較することによって除外することができる。このアプローチは、巻き込まれたピークを発生させる重なり合った成分バンドが通常存在することによって制約される。試料に関する入手可能な知識は、存在すると予測される成分に関して特定の装置を操作する

成分のピークについて関連させることには役に立たない。しかしながら、場合によっては、数百の可能性のある相関の中から選択する基準がない。高分離能の多次元分離およびピークの信頼性の高い共通割り当て (co-assignment) を明確な同定操作を必要としない相関多次元クロマトグラフィー方法が要求されている。より詳しくは、濃度分布を横切るピークのより正確な相関を提供する多次元分離が望まれている。この方法は広範囲の分離技術にわたって作用することが好ましい。

【0016】

【発明の目的】本発明の目的は、上述の問題点を解消し、ハイブリッドのカラムを挿入することにより、共通ピークの割り当てを容易する多次元クロマトグラフィーおよびシステムを提供することにある。

【0017】

【発明の概要】本発明は、複数の独立した分離路と少なくとも確認ハイブリッド分離路 (confirmatory hybrid separation path) を有する相関クロマトグラフィー・システムを提供する。本発明の方法は独立した分離路とハイブリッド分離路のそれぞれを通過させる試料操作を含む。各分離路と連結している検出器は、分離路におけるクロマトグラムを提供する。

【0018】非常に有用な最小の構成においては、独立分離路の数 N は2であり、確認ハイブリッド路の数 M は1である。例えば、このような場合には、第1の独立分離路からの1分間の溶出時間と第2の独立分離路からの3分間の溶出時間の平均をとり、ハイブリッド路に沿った対応するピークについての2分間の溶出時間を推測することができる。付加的な確認ハイブリッド路によって、相関の信頼性を高めることができる。他方、単一のハイブリッド分離路を二つ以上の独立分離路に経済的に利用することができる。一般に、 $M = N(N-1) / 2$ が成り立つ場合には一組ごとの確認をおこなうことができ、 M がより大きいと、より精密な内挿 (interpolations) が可能となる。

【0019】独立分離路は、結果得られた独立した濃度分布の情報 (従属的) ハイブリッド濃度分布における推定ピーク位置を計算するために利用することにより、「独立変数」という意味で独立している。独立分離路は、また一独立濃度分布の成分位置が他の濃度分布における成分位置のみで決定することはできないことから、独立していることが好ましい。独立濃度分布間の相関が低いときには、ハイブリッド濃度分布はより有用な確認のための情報を提供する。

【0020】各ハイブリッドは、2またはそれ以上の独立分離路の選択性の平均値 (加重または非加重) である選択性を連続的に有するように構成されていることが好ましい。例えば、ハイブリッド路は独立分離路に使用される固定相の混合物と同じ固定相を備えていてもよい。代わりに、 α 分離路の電場を液体クロマトグラフ・カラ

ムに備え付けることによって、ハイブリッド LC/CE 分離路を得ることもできる。

【0021】例えば、相互的な影響のために、連続的に選択性を組合わせることは容易ではない。このような場合、ハイブリッド分離路は、それぞれ独立分離路の一つに適合する選択性を有する隣接するセグメント (abutting segments) から成る。2次元の場合、二つのセグメントのみ使用する必要がない。より高次元を実施するためには、さらに多くのセグメントを使用する。代替として、セグメントは繰返しパターンで配列させることができる。選択性の繰返しパターンを有する分離路は、グラジエント方法が採用されるときに特に有用である。

【0022】本発明の方法では、試料分配 (sample allotments) は独立分離路およびハイブリッド分離路を通過する。各分離路の通過によって濃度分布が得られる。各濃度分布で見られる各ピークは、もとの試料混合物の—またはそれ以上の成分を表わすもので、各成分はそれぞれの分離路における唯一のピークに正確に寄与する。

【0023】本発明は、無効化 (disconfirming) にする、すなわち、異なる分離移動のピーク間の「正しくない」相関を除外するために利用することのできる付加的制約にも寄与する。付加的制約は、単独であるいは他の制約と合わせて、正しくない相関の一部または全てを除外するために使用することができる。相関技術は、一連のすべての相関の集合 (set) または従来の制約 (ピーク面積) で得られる部分集合 (subset) に適用することができる。複雑な統計学方法を用いることにより、考慮される各相関に対して誤差の値を割り当てる (assign) ことができる。場合によっては、このような技術は「最高の」相関あるいは一群の最高の相関を識別することができる。このような技術は、しきい値以下の相関を無効にするものと考えられる。

【0024】考慮している各相関について、所与の確認ハイブリッド路に対して予測されるピークの位置を計算することによって、予測されるハイブリッド・クロマトグラムを求めることができる。例えば、 $N = 2$ 、 $M = 1$ のシステムでは、ハイブリッド・クロマトグラムにおけるピークの推定 (predicted) ピーク位置は、独立クロマトグラムにおける対応するピーク位置の加重平均とすることができる。予測されたクロマトグラムを実際のクロマトグラムと比較し、この比較によって、誤差測定が結果生じる。誤差測定は、予測されるピークと最も近い実際のピークとの間のユークリッド距離の総和を求めることによって得られる。代わりに、成分に割り当てられるすべてのピークの平均強度からピーク強度の偏差の二乗の総和をこの誤差測定に加算して求めることもできる。よって、誤差測定は各提起された相関に割り当てられる。もっとも低い誤差は最も正確である。代わりに、このような誤差情報は、それらの割り当てを優先順位をつけるため、ピーク面積に関する他の情報とともに用いること

10

20

30

40

50

もできる。この相関は、相関技術を含むものである。しかしながら、本発明は、いくつかの正しくない組を除外するために付加的制約を提供する。

【0025】ハイブリッドおよび独立の分析分離は、分析処理量（スループット）を最大にし、そして共通の周囲条件を得るため、同時におこなうことができる。代替としては、本発明の各動作工程はさまざまな順でおこなうことができる。もちろん、独立分離の後に生じる推定される位置の計算と割り当ての提案が行われ、両方の分離の後に、推定された位置のピークの決定とピーク面積の比較が行われる。

【0026】本発明の2次元での実施においては、第1の分離カラムは第1の選択性を有し、第2の分離カラムは第2の選択性を有し、そしてハイブリッド分離カラムは線形または第1と第2の選択性の他の明確に定義された組み合わせの選択性を有している。実施例では、これは、二つの選択性に関連する固定相の混合物を連続的に供給することによって実現することができる。代わりに、ハイブリッド分離路の各セグメントは、第1および第2の選択性に割り当てられる。これは、カラムの上流半分に第1の選択性を持たせ、そしてカラムの下流半分に第2の選択性を持たせるように調整することによって行うことができる。しかしながら、第1と第2の選択性におけるセグメントを交互に変えることによって、グラジエント分析手順がおこなわれている。

【0027】二つの独立分離カラムに関連する濃度分布は、2次元プロットの直交軸に沿ってそれぞれプロットすることができる。より大きな数の次元をアナログ的に取扱うことができる。ハイブリッド濃度分布は、独立のクロマトグラムの線形的な組み合わせによって直線に沿ってプロットすることができる。提案される割り当ては、各直交濃度分布からの一組のピークより成る。ピーク対の間に引かれた直線がハイブリッド濃度分布のピークまで拡張しないならば、あるいは交差ピークが独立ピークの面積と一致しない面積を有するならば、割り当ては無効化することができる。無効化のない場合、確認として取扱うことができる。

【0028】本発明は、多次元分析分離において、同定に必要なすべての情報を同時の操作（移動）によって得ることができる利点を有する。分離された成分は、それ以上分析する必要がない。通常のクロマトグラフィーと対照的に、本発明はあらかじめ試験測定で求めた化学部位の保持時間のテーブルあるいはピーク面積を参照することなく、相関の確認を提供する。他方、本発明はピーク面積の比較と保持時間の表を用いて、さらにもっと信頼性の高い同定（識別）を行うことができる。その結果、ガスクロマトグラフィーだけを利用するシステムでは、ガスクロマトグラフィー／質量分析計システムが有する同定能力に近づくことができる。本発明のこれらのおよび他の特徴および利点は、以下の図面を参照した詳

細な説明から明らかである。

【実施例】

【0029】図1には、二次元濃度分布が示されており、これは、図2の二次元ガスクロマトグラフ・システム200で得たものである。システム200は、第1の独立分離カラム2AA、第2の独立分離カラム2BB、ハイブリッド分離カラム2AB、検出伸長部分21A、21B、21H、検出器22A、22B、22H、コンピュータ220、プリンタ222およびオープン224を備えている。カラム2AA、2BB、2ABは、オープン224内に配置されて、カラム温度が正確に制御される。検出伸長部分21A、21B、21Hは、そこからオープン224の外側の各検出器へ溶出液を移送するために、それぞれの分離カラム2AA、2BB、2ABの端部に配置されている。検出器22A、22B、22Hは、逐次的に溶離する試料成分の濃度を測定するために設置された水素炎イオン化検出器である。検出器22A、22B、22Hの出力はコンピュータ220と連結している。コンピュータ220は、プリンタ222に検出器22A、22B、22Hの時間で変化している出力を表示しているハードコピーを提供する。コンピュータ220はまたオープン224を調節することによってカラム温度も制御する。

【0030】分離カラム2AAと2BBは、それらの各クロマトグラムが「従属的な」ハイブリッド分離カラムの推定ピーク位置を計算するために独立変数として使用されることより独立している。加えて、カラム2AAと2BBはそれらの出力の相関の度合いが低い（low magnitude）なるように選択されている。このように低い相関は、カラム2AAから溶出される同定されていない成分の保持時間がカラム2BBから溶出する同じ成分の保持時間から予測することができず、その逆も成立つことより、カラム2AAと2BBを独立にさせている。例えば、カラム2AAはカラム2BBが分離できなかった二つの成分を分離するかも知れないし、またカラム2BBはカラム2AAが分離できなかった二つの成分を分離するかも知れない。相関の大きさが小さいことの一つの利点は、一カラムにおいて分離できない成分を他のカラムによって分離できる可能性が比較的高いということである。

【0031】カラム2AAと2BBの保持時間が既知であるならば、カラム2ABの保持時間を計算することができ、カラム2ABはカラム2AAおよび2BBに対して集散的に従属している。さらに詳細には、カラム2ABの固定相は、カラム2AA、2BBの固定相の同量分混合物である。したがって、カラム2ABの保持時間は、カラム2AA、2BBの成分に対する保持時間の平均となる。

【0032】本発明の他の実施態例においては、ハイブリッドカラム3ABは、図3に示すように、二つのセグメント301、302より構成されている。セグメント301がカラム2AAと同じ固定相を有しているのに対して、セグメント302はカラム2BBと同じ固定相を有している。セグメント301、302は同じ長さを有する。したがって、各成分

について、カラム3ABの保持時間は、カラム2AAと2BBのそれぞれの保持時間の平均となる。

【0033】別の実施例であるハイブリッドカラム4ABを図4に示す。このカラム4ABは、10個のセグメント401～410を有している。奇数番目のセグメント401、403、405、407、409は、カラム2AAと同じ固定相を有しており、偶数番目のセグメント402、404、406、408、410はカラム2BBと同じ固定相を有している。カラム4ABは熱グラジエント分離 (thermal gradient separation) を採用する場合には特に有用であるが、連続的なハイブリッド固定相を実現するため、固定相を混合することは実際の

でない。

【0034】成分分離システム200を利用する方法500は、図5にフローチャートとして示している。独立分離操作は、ステップ501で行われる。「独立 (independent)」という用語は、独立分離操作の結果に基づいてここで「ハイブリッド」と呼ばれる従属分離操作の結果を計算するということより、「従属」に対比させて「独立」を用いるものである。「独立」はまた独立分離操作過程の結果が直交性であることを表わすためにも用いられる。一方の独立分離の結果から他方の独立分離の結果を推定することができないとき、結果は直交している。二つの強く相関している分離操作は直交していない。本発明は独立分離操作が直交性であるかまたそのように証明されるかは必要としない。しかしながら、より直交性であるほど、ハイブリッド分離操作からより有用な情報を得ることができる。

【0035】ステップ501では、分析スループットを節約し、グラジエント操作中の共通の条件を保証するため、同時操作が行われることが好ましい。一時的、空間的 (spatial) および空間一時的 (spatio-temporal) 熱グラジエントが提供される。

【0036】ステップ502では、共通の試料成分のピークを割り当てる。言い換えれば、各独立クロマトグラムからの一つを含む二つのピークが試料の共通成分に対応すると仮定する。割り当ては任意におこなうことができる。例えば、可能性のあるピークの組合わせの完全なセットに対して本発明の無効化操作を適用することもできる。好ましくは、計算処理を減らすため、ある程度の除外をおこなう。成分の同定は必要としない。

【0037】ステップ503においては、仮定した割り当ての共通成分に属するピークをハイブリッドクロマトグラム中で占めるであろう位置が計算される。本実施例においては、ハイブリッドクロマトグラムの位置は各独立クロマトグラムの割り当てられたピークの位置の間の中点である。計算は、保持時間の操作間変化を調節するために正確な位置または位置範囲を得ることができる。実際には、正確な位置を計算することができ、ピークの幅はピークの中心位置の許容範囲を規定することができる。

【0038】ステップ511においては、ハイブリッドカラム2ABに沿って分離された試料を用いて、ハイブリッド操作が行われる。論理的には、このステップはステップ503の推定の後におこなう。実際には、このステップは分析スループットを最大化するためにステップ501と同時ににおこなう。加えて、同時操作によって条件を操作毎に等しくすることが保証される。これは、オープン224の温度が成分分離中に、グラジエントを形成するグラジエント操作には特に重要である。

【0039】ステップ504から得られるハイブリッドクロマトグラムは、ステップ503において計算される位置の許容範囲内のピークの存在を確認する。推定された位置あるいはその近くにピークがないとすれば、ステップ502の仮の割り当てが結果514として示されるように無効であると考えられる。

【0040】もしピークが推定した位置に存在するならば、割り当てられたハイブリッドピークの面積を、ステップ505で不一致 (inconsistency) を見つけるために比較する。もしすべての成分が分離されるならば、所与の成分のピーク面積は操作を通じて比較できるものである。場合によっては、分離することに失敗すると少なくとも一つのピーク的面積を増加させる可能性がある。場合によっては、不一致はピークの重なりによっては説明することができないこともある。例えば、もし割り当てられた独立ピークの面積が等しい場合、これは逆に重なりを示すことになる。もし、ハイブリッドピークが二つの等しい独立ピークよりも小さい面積を有していたとすれば、ハイブリッドピークは独立ピークと同じピークを示す可能性はない。したがって、結果515に示すように、ピークは一致しておらず、割り当ては無効であると考えられる。無効化における信頼性は、他の情報に基づいて調整することができる。もしピーク面積が同じであるか、あるいは一致しているならば、無効のまちがいは、ステップ506に示すように確認として処理することができる。

【0041】方法500の結果を図1に示す。カラム1AA、1BB、1ABの出力に対応するクロマトグラム1AA、1BB、1ABが共通の原点から伸長するように示されている。クロマトグラム1AA、1BBが直交軸に沿って描かれているのに対して、クロマトグラム1ABはクロマトグラム1AAと1BBとの間で45°の角度を有するベースラインから描かれている。クロマトグラム1AAは5個のピーク1A1、1A2、1A3、1A4、1A5を含む。クロマトグラム1BBは6個のピーク1B1、1B2、1B3、1B4、1B5、1B6を含む。

【0042】ピークの数 (5対6) の差は、クロマトグラム1AAの二つのピークが巻き込まれていることを示唆している。ピーク領域の比較は、クロマトグラム1AAの二つの最大のピークがクロマトグラム1BBの最大の二つのピークと同じ二つの成分に対応する。すなわち、1A2、1A4は、1B5、1B2と同じ成分に対応することを提案す

るのが合理的である。1A2が1B6または1B6に対応するかどうかは不明確であり、1A4が1B5または1B6に対応するかどうかも不明確である。

【0043】方法500は、他方よりも妥当である一つの割り当てを選択するための基準を選択する。直線111、112は、1A2から1B6および1A4から1B5の提案された割り当てを示す。これらの直線111、112は、各点121、122においてクロマトグラム1ABと交差している。点122は接近しているが、点121、122はピークの位置にない。1A4から1B5の割り当ては明らかに無効であるので、1A2から1B5の割り当ても無効である。ピーク1A4から1B5および1A2から1B6の他の割り当ては、線131、132によって示されている。さらに、線131から136は、ピーク1A1から1B5に対するピーク1B1から1B6の完全なマッピングを示している。ピーク1B3と1B2の両方がそれぞれピーク1A3にマッピングしている線132、133に注目する。マッピングのこの組は、ピーク1A3がピーク1B2、1B3によって示される成分に対応するピークの巻き込みであることを示している。この巻き込みは、それぞれ線132、133と交差しているハイブリッドクロマトグラム1AB上のピーク1H2、1H3によって確認される。ピーク1H2、1H3は、もしピーク1A3が分離できなかった試料成分を示していたとすれば、推定されるピーク1B2と1B3間の距離の約半分分離されている。これは、巻き込まれたピークの取扱いにおける方法500の有効性を示している。

【0044】前述の代わりにあるいは追加して、さらに

合においては、不明確さのない正確な相関を見積もることが(eye-ball)できる。ほとんどの場合、 $N=2$ 、 $M=3$ のときに信頼性の高い相関が得られる。

【0046】システム200は通常の熱グラジエントを有する2次元ガスクロマトグラフィーを含む。当業者には、このシステムおよび方法は、3次元またはそれ以上の多次元も予測することができる。独立分離およびハイブリッドに対する中間熱グラジエントによって様々の熱グラジエントを適用することができる。

【0047】ガスクロマトグラフ以外の分離技術を利用することも可能である。例えば、本発明は液体クロマトグラフおよび電気泳動による分離を提供する。後者の場合、独立カラムに様々なpH緩衝剤を使用することができ、ハイブリッドカラムに中間pHの緩衝剤を使用することができる。本発明はさらに種々の技術を利用して、独立分離を行う場合に適用される。例えば、独立分離は液体クロマトグラフィーとキャピラリーゾーン電気泳動より構成することも可能である。ハイブリッドカラムは、液体クロマトグラフのカラムに沿って電場を印加する。

【0048】分離技術の他の組合わせを利用することができる。重要な要素は、ハイブリッド分離を行うための技術の組合わせの可能性と、独立分離によって得られる分離の相関が小さいことである。以上説明してきた実施例に対する様々の変形および変更態様が本発明によって提供され得ることは明らかである。

【0049】以上、本発明の実施例について詳述したが、以下に本発明の各実施態様毎に列挙する

よりも極めて小さいときに、前記推定位置におけるピークが存在にもかかわらず、無効化をおこなう前項(1)記載の多次元クロマトグラフィーである。

【0051】(3)前記ハイブリッド分離操作は、連続的なハイブリッド選択性を有する分離路に沿った成分分離がおこなわれる前項(1)記載の多次元クロマトグラフィーである。

【0052】(4)前記N個の独立分離操作は、第1の選択性を有する第1の独立分離路に沿って試料成分が分離される第1の独立分離操作と、第2の選択性を有する第2の独立分離路に沿って試料成分が分離される第2の独立分離操作を含み、前記ハイブリッド分離操作は、前記第1の特性を有する第1のセグメントと前記第1のセグメントの下流にあって前記第2の選択性を有する第2のセグメントより構成されるハイブリッド分離路に沿った試料成分の分離を含む前項(1)記載の多次元クロマトグラフィーである。

【0053】(5)前記ハイブリッド分離路は、前記第2のセグメントの下流にある第3のセグメントを有し、前記第1の選択性を有する前項(4)記載の多次元クロマトグラフィーである。

【0054】(6)N個の異なる選択性を有するN個の独立分離路と、第1の選択性を有する第1の独立分離路と前記第1の選択性と異なる第2の選択性を有する第2の独立分離路を含むN個の独立分離路と、前記N個の選択性の組合せよりなるハイブリッド選択性を有するハイブリッド分離路と、前記独立分離路およびハイブリッド分離路に対する各クロマトグラムを生成させるための検出手段とを含む多次元クロマトグラフィー・システムである。

【0055】(7)前記ハイブリッド分離路は、前記第1の選択性を有する第1のセグメントと、前記第1のセグメントの下流にあって、前記第2の選択性を有する第2のセグメントとを備えている前項(6)記載の多次元クロマトグラフィー・システムである。

【0056】(8)前記ハイブリッド分離路は、前記第1 *

*の選択性を有する第1群のセグメントと前記第2の選択性を有する第2群のセグメントを有し、前記第1群および第2群のセグメントが相互に構成されている前項(6)記載の多次元クロマトグラフィー・システムである。

【0057】(9)前記ハイブリッド分離路は、前記ハイブリッド選択性を連続的に有する前項(6)記載の多次元クロマトグラフィー・システムである。

【0058】

【発明の効果】以上説明したように、本願発明により、複数の相関があまりない独立した分離路と該分離路と相関のあるハイブリッド分離路より構成し、独立分離路で得られたクロマトグラムの共通とおもわれる成分のピークを割り当て、その割り当てが有効かどうかハイブリッド分離路で得られたクロマトグラムより容易に判断できると共にピークのブロードや重なりのない良好な分離能を有する多次元クロマトグラフィーとシステムを得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は、本発明の一実施例で得られた3つのクロマトグラムから構成される2次元濃度分布図。

【図2】図2は、本発明の一実施例である多次元クロマトグラフィーの概略図。

【図3】図3は、図2のシステムに用いることが可能な他の実施例のハイブリッド分離カラムの概略図。

【図4】図4は、図2のシステムに用いることが可能な他の実施例のハイブリッド分離カラムの概略図。

【図5】図5は、本発明の一実施例である多次元クロマトグラフィーのフローチャート。

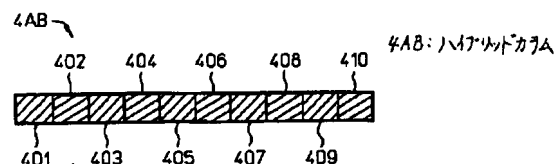
【符号の説明】

- 200：二次元ガスクロマトグラフ・システム
- 2AA、2BB：独立分離カラム
- 2AB、3AB、4AB：ハイブリッド分離カラム
- 220：コンピュータ
- 222：プリンタ
- 224：オープン

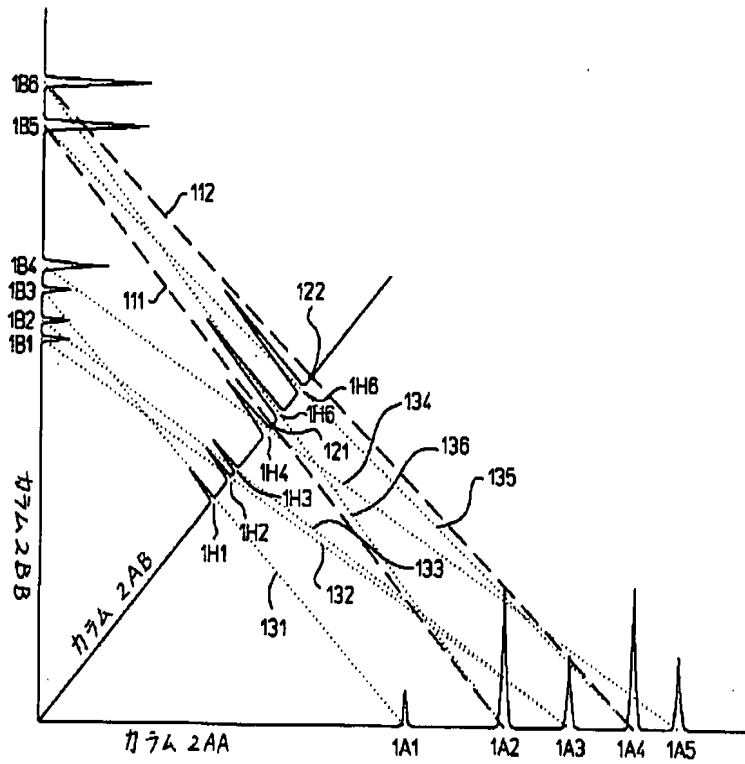
【図3】



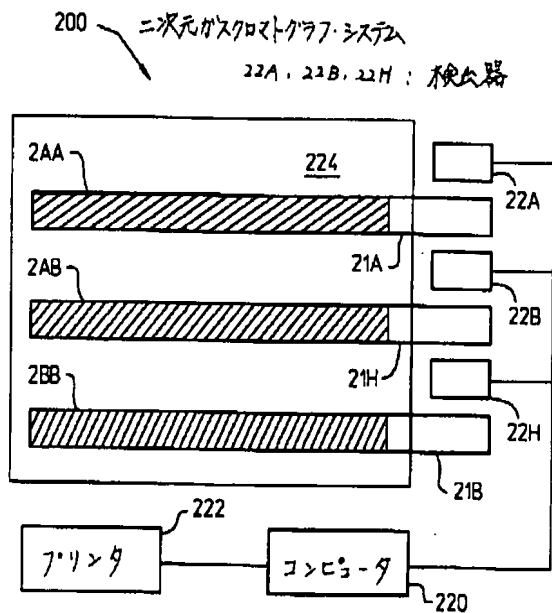
【図4】



【図1】



【図2】



【図5】

